

**Zum Nachweis der Sulfonamide und ihrer Acetyl-Derivate
mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie und der
Schmelzpunktbestimmung**

Bernd Schubert

1980

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und
Versicherungsmedizin der Universität München

Direktor: Prof. Dr. W. Spann

Zum Nachweis der Sulfonamide und ihrer Acetyl-Derivate
mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie und der
Schmelzpunktbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Bernd Schubert

aus

Pirkenhammer

Jahr

1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Spann
Mitberichterstatter:	Dr. L. von Meyer
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	26. 2. 1980



G l i e d e r u n g d e r A r b e i t

	Seite
A) Einleitung	1
B) Material und Methoden:	4
I) Die Reinsubstanzen	4
II) Acetylierung der Reinsubstanzen	5
a) im menschlichen Organismus	
b) in vitro	
III) Schmelzpunktbestimmung der N ₄ -Acetylsulfonamide	7
IV) Dünnschichtchromatographie der Prüfsubstanzen	10
C) Diskussion der Ergebnisse:	15
I) Ergebnisse der Schmelzpunktbestimmung	15
II) Ergebnisse der Dünnschichtchromatographie	16
D) Identifizierung der Prüfsubstanzen	21
E) Zusammenfassung	25
F) Literatur	28
G) Lebenslauf	32



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A) E i n l e i t u n g

Die Sulfonamide haben seit ihrer Entdeckung als Arzneimittel 1935 durch G. DOMAGK (6) ein sehr unterschiedliches Interesse in der Medizin gefunden, ihren festen Platz in der Therapie jedoch bis heute behaupten können. Durch die Einführung der Antibiotika wurden sie zeitweise aus ihrer führenden Stellung in der Chemotherapie verdrängt, erreichten aber bald wieder in dem nun abgegrenzten Indikationsbereich - leichte und mittelschwere Infektionen - ihre frühere Bedeutung. Längere Wirkungsdauer bei gleichzeitiger Verringerung der Nebeneffekte und niedrigere Behandlungskosten führten zu einer Anwendung der Sulfonamide in immer breiterem Ausmaß und erreichten dadurch, daß sich auch andere Fachrichtungen für diese Arzneimittelgruppe und deren Auswirkungen interessierten.

So war es gerade auch die gerichtliche Medizin, in der die Sulfonamide immer mehr Aufmerksamkeit fanden, seitdem der Einfluß antibakteriell wirkender Präparate - in therapeutischen Dosierungen angewandt - auf die gerichtsärztliche Diagnostik durch die Arbeiten von H.-J. WAGNER (63) bekannt wurde. Dem Nachweis der Sulfonamide kam damit weitere Bedeutung zu und es verstärkten sich die Bemühungen, diese Verbindungen und ihre Abbauprodukte zu analysieren und darzustellen.

WOJAHN (66), HOFFMANN und WILKENS (28), sowie HUCKNALL und TURFIT (31) haben an Hand der für jedes Sulfonamid

charakteristischen Fällungs- und Farbreaktionen Analysengänge ausgearbeitet, die den qualitativen Nachweis der Bestandteile gestatten.

Nach Entwicklung der Papierchromatographie (PC) und der noch zeitsparenden Dünnschichtchromatographie (DC) erkannte man in der Folgezeit sehr schnell die Bedeutung der Methoden für die Identifizierung der sonst analytisch schwer faßbaren Sulfonamide (SA) und ihrer Gemische. Die Brauchbarkeit dieser Methoden innerhalb der Arzneimittelanalyse wurde in zahlreichen Veröffentlichungen bestätigt (PC: 6 - 14; DC: 15 - 25).

1970 hat H. FLUX (15) am Institut für gerichtliche Medizin und Versicherungsmedizin in Freiburg noch einmal die ganze Gruppe der Sulfonamide und ihrer Abkömmlinge - insbesondere der oralen Antidiabetika - systematisch untersucht. Er versuchte dabei, die einzelnen Präparate nur mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von verschiedenen Laufmitteln zu identifizieren. Mit dieser Methode erreichte er eine Treffergenauigkeit von etwa 90 %, allerdings unter der Voraussetzung, daß es sich bei den zu bestimmenden Substanzen in jedem Falle um Vertreter der Sulfonamid-Gruppe (SA-Gruppe) handelte.

Da sich nun im Laufe der letzten Jahre die Technik der Dünnschichtchromatographie durch die Fertigplatten noch vereinfachte, auch neue Präparate auf den Arzneimittelmarkt gelangten, lag es nahe, diese

einfache, bewährte Nachweismethode wieder zu ergänzen und weiter auszubauen.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Gruppe der acetylierbaren Sulfonamide, besonders aber ihre N_4 -acetylierten Derivate als wichtige anfallende Stoffwechselprodukte mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie darzustellen und nur an Hand von hR_f -Werten zu bestimmen. Gelingt dies, könnten einerseits auch die Sulfonamide erfaßt werden, die in Körperflüssigkeiten und in Ausscheidungen mit überwiegendem Anteil in acetylierter Form vorliegen, andererseits würde sich die Trefferquote bei denjenigen Verbindungen noch erhöhen, die sowohl unverändert als auch acetyliert ausgeschieden werden, da sich hierbei immer für eine Sulfonamid-Substanz die doppelte Anzahl an hR_f -Werten ergibt.

Liegt weiterhin die Reinsubstanz allein vor, so wäre es wiederum möglich, falls Schwierigkeiten bei der Identifizierung auftreten sollten, diese noch nachträglich zu acetylieren, um somit ebenfalls mit Wertpaaren arbeiten zu können.

Da wegen der engen chemischen Verwandtschaft der Sulfonamide auch hierbei nicht grundsätzlich angenommen werden kann, daß sich alle erzielten hR_f -Werte genügend differenziert darstellen, wird in dieser Arbeit noch untersucht, inwieweit das Schmelzpunktverfahren zur weiteren Klärung Anwendung finden kann.

B) M a t e r i a l u n d M e t h o d e n

I) Die Reinsubstanzen

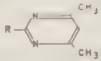
Zur Untersuchung gelangten vierundzwanzig gebräuchliche SA-Verbindungen, die zu Beginn der Versuchsreihe 1972 im deutschen Arzneimittelverzeichnis (1) angeführt waren und deren Acetylierbarkeit auf Grund ihrer freien Aminogruppe am Ring angenommen wurde.

Die Reinsubstanzen wurden direkt von den einzelnen Herstellern bezogen und in braunen, verschließbaren Gläsern aufbewahrt.

Sie sind in folgendem, nach Gruppen geordnet, mit Freinamen, chemischer Bezeichnung und Strukturformeln aufgeführt.

Reinsubstanzen

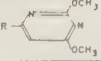
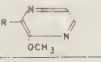
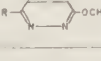
Kurzzeitsulfonamide

SULFACARBAMID (INN)	Sulfanilylurea (IUP)	$R-CO-NH_2$
SULFADIAZIN (INN)	N^1 -(2-Pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFADICRAMID (INN)	3,3-Dimethyl-N-sulfanilyl-acrylamid (IUP)	$R-CO-CH=C(CH_3)_2$
SULFADIMIDIN (INN)	N^1 -(4,6-Dimethyl-2-pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFATHIAZOL (INN)	N^1 -(2-Thiazolyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFATHIOCARBAMID (INN)	Sulfanilyl-thioharnstoff (IUP)	$R-CS-NH_2$
SULFANILAMID (INN)	4-Aminobenzolsulfonamid (IUP)	$R-N$
SULFISOMIDIN (INN)	N^1 -(2,6-Dimethyl-4-pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	

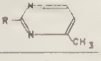
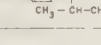
Mittelzeitsulfonamide

SULFAETHIOL (INN)	N^1 -(5-Aethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAFURAZOL (INNw, DCF)	N^1 -(3,4-Dimethyl-5-isoxazolyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAMETHOXAZOL (INN)	N^1 -(5-Methyl-3-isoxazolyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAMOXOL (INN)	N^1 -(4,5-Dimethyl-2-oxazolyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAPHENAZOL (INN)	N^1 -(1-Phenyl-5-pyrazolyl)-sulfanilemid (IUP)	

Langzeitsulfonamide

SULFADIMETOXIN (INN)	N^1 -(2,6-Dimethoxy-4-pyrimidin-4-yl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFALEN (INNw)	N^1 -(3-Methoxy-2-pyrazinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAMETHOXYDIAZIN (INN)	N^1 -(5-Methoxy-2-pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAMETHOXYPYRIDAZIN (INN)	N^1 -(6-Methoxy-3-pyridazinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAPERIN (INN)	N^1 -(5-Methyl-2-pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	

Kombinierte Sulfonamide

SULFAMERAZIN (INN)	N^1 -(4-Methyl-2-pyrimidinyl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAMETHIZOL (INNw, DCF)	N^1 -(5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-sulfanilemid (IUP)	
SULFAPROXILIN (INN)	4-Isopropoxy-N-benzamid (IUP)	
SULFATOLAMID (INN)	Sulfathiocarbanid-Salz des Mefenid	

Schwer resorbierbare Sulfonamide

SULFAGUANIDIN (INN)	N^1 -Amidino-sulfanilemid	
------------------------	-----------------------------	---

Orales Antidiabeticum

CARBUTAMID (INN)	1-Butyl-3-sulfanilyl-harnstoff (IUP)	$R-CO-NH-C_4H_9$
---------------------	--------------------------------------	------------------

Erklärung der Abkürzungen:

INN = Empfohlene International non-proprietary names;

INNw = Vorgeschlagene " " ;

IUP = Chemische Bezeichnung nach den Regeln der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

DCF = Dénomination Commune Française ;



II) Acetylierung der Sulfonamide

a) Im menschlichen Organismus

Die Acetylierung der aromatischen Sulfonamide in vivo erfolgt je nach species nicht nur in der Leber, wenn auch hier zum größten Teil, sondern in mehr oder weniger großem Umfang auch im reticuloendothelialen System (20) und im Blut (14). Das gesamte Ausmaß der Acetylierung ist dabei von der chemischen Struktur des Präparates und verschiedenen exogenen und endogenen biologischen Faktoren abhängig. Krankhafte Veränderungen an Leber und Nieren erhöhen zumeist die Acetylierungsraten. So wurden bei Untersuchungen an Patienten mit Lebercirrhose deutlich erhöhte Anteile von acetyliertem Sulfonamid im Urin, bei niereninsuffizienten Kranken deutlich erhöhte Ac-Werte im Blut gefunden (43, 30, 27).

Eliminiert werden die Sulfonamide und ihre N₄-Metaboliten in überwiegendem Maße auf renalem Weg, Ausnahme: Formo-Cibazol (51), wobei der Ausscheidungsmechanismus von Substanz zu Substanz variiert, je nach den physikalisch-chemischen Eigenschaften der einzelnen Verbindungen.

In Tabelle I, Spalte 1 und 2 sind die in der Literatur angeführten Prozentwerte von acetyliertem Sulfonamid im Verhältnis zum Gesamtsulfonamid angegeben, wie sie im Blut und Urin von Gesunden gemessen wurden.

b) In vitro

In dieser Arbeit wurden die für den DC-Nachweis not-

Tabelle I

Sulfonamide	Acetylierter Anteil		Literatur
	im Blut	im Urin	
1) Sulfacarbamid		11-18	60
2) Sulfadiazin	5-17 17	25-52 32	60 24
3) Sulfadicramid	20-30	7-20 25	47,25 16
4) Sulfadimidin	15-20	40-80 20	48,57 24
5) Sulfathiazol	10-28	17-30	24,16
6) Sulfathiocarbamid	10-15	12,6	40
7) Sulfanilamid		30	16
8) Sulfisomidin	10	10-35	23,52
9) Sulfaethidol	5-10	10-15	18,61
10) Sulfafurazol	15-35	21-35	3,41
11) Sulfamethoxazol	4-15	60	60
12) Sulfamoxol		20-50	60
13) Sulfaphenazol	7	27	19
14) Sulfadimethoxin	3-15	18	64
15) Sulfalen		70	36
16) Sulfamethoxydiazin		20-40	60
17) Sulfamethoxypyridazin	10-20	35-60	54,19,12
18) Sulfaperin	42	15-30	32
19) Sulfamerazin	8-15	50-60 11	60 39
20) Sulfamethizol		12	50,44

Sulfonamide	Acetylierter Anteil		Literatur
	im Blut	im Urin	
21) Sulfaproxilin	3- 7	10-25	68
22) Sulfatholamid			
23) Sulfaguanidin	20-40	41	4,60
24) Carbutamid	3-15	33-50	8

wendigen Mengen an Acetyl-Sulfonamid aus den bezogenen Reinsubstanzen synthetisiert, wobei die Acetylierungsverfahren nach HOUBEN, WEYL (29), ENOKI (10) und POHLOUDEK-FALINI-BEYRICH (46) als Grundlagen dienten.

Methode A (65, 62):

Verwendete Menge des
jeweiligen Sulfonamides (SA) = $\frac{\text{Molgewicht des SA}}{100}$ g;

Verwendete Menge an
Essigsäureanhydrid = $\frac{\text{Molgewicht von } C_4H_6O_3}{100}$ g $\cdot \frac{3}{2}$ = 1,5 g;

In einem Glaskolben wurde zu der jeweilig errechneten Menge an Sulfonamid die konstante Menge von 1,5 Gramm Essigsäureanhydrid ($C_4H_6O_3$) gegeben und mit einem Glasstab solange verrührt, bis sich alles SA-Pulver unter Entwicklung von Wärme mit Essigsäureanhydrid vermischt hatte. (Die genauen Mengenangaben der einzelnen Substanzen sind in Tab. II, Spalte 1 und 2 aufgeführt). Gelangte nicht das gesamte Pulver zur Einwirkung, wurde Essigsäureanhydrid solange zugegeschüttet, bis sich auch der letzte Rest an Pulver aufgelöst hatte. Die Mischung wurde gelegentlich durchgerührt und bei Raumtemperatur mindestens 3 Stunden in abgedecktem Zustand stehen gelassen, wobei sie meist zu einer festen Masse erstarrte. Diese wurde nach abgelaufener Zeit, manchmal erst am nächsten Tag, wieder zerkleinert, in Methanol gelöst und die Lösung durch einen Filter geschüttet. Nach Abdampfen der

Tabelle II

Sulfonamide	Sp. 1	Sp. 2
1) Sulfacarbamid	2,7	1,5
2) Sulfadiazin	2,5	1,5
3) Sulfadicramid	2,5	1,5
4) Sulfadimidin	2,8	1,5
5) Sulfathiazol	2,5	1,5
6) Sulfathiocarbamid	2,3	3,0
7) Sulfanilamid	1,7	1,5
8) Sulfisomidin	2,8	1,5
9) Sulfaethidol	2,8	1,5
10) Sulfafurazol	2,7	1,5
11) Sulfamethoxazol	2,5	1,5
12) Sulfamoxol	2,7	1,5
13) Sulfaphenazol	3,1	3,0
14) Sulfadimethoxin	3,1	1,5
15) Sulfalen	2,8	1,5
16) Sulfamethoxydiazin	2,8	1,5
17) Sulfamethoxypyridazin	2,8	1,5
18) Sulfaperin	2,6	1,5
19) Sulfamerazin	2,6	4,0
20) Sulfamethizol	2,7	1,5
21) Sulfaproxiilin	3,3	1,5
22) Sulfatholamid	2,1	1,5
23) Sulfaguanidin	2,1	1,5
24) Carbutamid	2,7	1,5

Spalte 1: Zur Acetylierung verwendete Menge des SA

Spalte 2: Zur Acetylierung verwendete Menge an $C_4H_6O_3$

Filterflüssigkeit fällten sich die Kristalle aus, die gesammelt und luftdicht verschlossen aufbewahrt wurden.

Da sich bei der anschließenden Kontrolle an Hand der Schmelzpunktbestimmung für die Substanzen Sulfanilamid und Sulfaperin abweichende Werte ergaben, wurden diese nochmals nach einer anderen Methode acetyliert.

Methode B (53):

Zu 200 mg SA wurden 20 Tropfen Essigsäureanhydrid geschüttet, durchgerührt und der Ansatz 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Darauf wurden einige Tropfen Wasser (1 - 2 ml), sowie einige Tropfen n-Natronlauge zugesetzt, bis ein pH-Bereich von 5 - 6 erreicht war. Das ausgeschiedene Monoacetylsulfanilamid wurde isoliert und aus Wasser-Äthanol umkristallisiert.

Die jetzige Kontrolle mit der Schmelzpunktbestimmung ergab Übereinstimmung mit den Werten der Literatur.

III) Schmelzpunktbestimmung der N₄-Acetyl-Sulfonamide

Zur Bestätigung der nach den Methoden A und B synthetisierten N₄-Acetyl-Sulfonamide wurde die Schmelzpunkt-Mikrobestimmung mit Hilfe des K O F L E R - Heitzisch-Mikroskops (34) angewandt. Verglichen wurden die in der Fachliteratur angegebenen Sollwerte mit den eigenen Messungen, die mit der "durchgehenden" Schmelzpunktbestimmung ermittelt wurden, wobei man

die Temperatur des Heiztisches ohne Unterbrechung bis zum vollständigen Schmelzen der Substanz ansteigen ließ.

Unter Berücksichtigung möglicher Fehlerquellen galt dabei jede Verbindung als bestätigt, wenn ihr Sollwert innerhalb der gemessenen Temperaturwerte von Schmelzbeginn und Schmelzende lag oder wenn der errechnete Mittelwert von Schmelzbeginn und Schmelzende vom Sollwert nur unwesentlich abwich.

Lagen die Schmelzpunkte von Reinsubstanz und Acetylderivat sehr dicht beisammen, wie das bei Sulfaethidol und Sulfadiazin der Fall war, so konnte die Bestätigung, daß es sich auch wirklich um die Acetylverbindung handelte, erst nachträglich an Hand der Dünnschichtchromatographie vorgenommen werden, da sich hier die Reinsubstanzen mit den angewandten Sprühverfahren anfärben ließen, die acetylierten Verbindungen dagegen nicht, da die freie aromatische Aminogruppe der Reinsubstanz bereits von der Acetyl-Gruppe besetzt wurde.

Herstellung des mikroskopischen Präparates:

Die Prüfsubstanz wurde zwischen zwei Objektträgern zu Pulver verrieben, eine kleine Menge davon auf einen neuen Objektträger (26 x 38 mm, 1 mm dick) gegeben und mit einem Deckglas (15 x 15 mm) bedeckt. Durch Andrücken des Deckglases unter leichtem Verschieben wurde das Pulver gleichmäßig verteilt.

Durchführung der Messungen:

Die Messungen wurden auf einem KOFLER-Heiztischmikroskop

durchgeführt, das verwendete Thermometer war bereits geeicht, die Anzeigeskala reichte von 120°C bis 340°C Celsius. Die erhaltenen Werte wurden nicht korrigiert. Das vorgefertigte mikroskopische Präparat wurde auf die Heizplatte in die Präparatenklemme gelegt und der Heiztisch mit einer Glasplatte zugedeckt. Darauf suchte man im Objektiv unter Verschieben der Präparatenklemme eine günstige Stelle des Präparates, in der die Kristallkörnchen gleichmäßig verteilt zu sehen waren. Die Anheiztemperatur wurde so gewählt, daß die Temperatur des Heiztisches ohne Unterbrechung bis zum vollständigen Schmelzen der Substanz anstieg, wozu meist ein 50°C über dem erwarteten liegender Wert eingestellt wurde. Schmelzbeginn und Schmelzende wurden abgelesen, daraus der Mittelwert errechnet und mit dem Sollwert verglichen.

Vor dem Auflegen eines neuen Präparates wurde der Heiztisch jeweils durch Wärmeentzug mittels eines Aluminiumblockes abgekühlt.

In Tabelle II sind die Sollwerte der einzelnen Substanzen und die eigenen Messungen festgehalten.

Tabelle III

Erklärungen:

Spalte 1 = Schmelzpunkte der Reinsubstanzen

Spalte 2 = Literaturangaben zu Spalte 1

Spalte 3 = Schmelzpunkte der acetylierten Substanzen

Spalte 4 = Literaturangaben zu Spalte 3

Spalte 5 = eigene Messungen anhand der "durchgehenden" Schmelzpunktbestimmung, wobei der erste Wert den Schmelzbeginn, der zweite Wert das Schmelzende angibt.

* Bei Substanz 22 geben die oberen Zahlenreihen die Schmelzpunkte von Mafenid, die unteren Zahlen die Schmelzpunkte von Sulfathiocarbamid an.

Sulfonamide	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 3	Spalte 4	Spalte 5
1) Sulfacarbamid	146-148 151-154 155-160	46 69	185-187	60	185-188
2) Sulfadiazin	252-256 253-258 260	46 69 60	256-257	60	256-259
3) Sulfadicramid	177-178	60	231	60	226-231
4) Sulfadimidin	194-196 197-200	60 69	248	60	246-249
5) Sulfathiazol	198-201 201-202 200-204	69 60 46	256-257	60	252-260
6) Sulfathiocarbamid	175-178 178-180	69 46	198-200	42	196-204
7) Sulfanilamid	163-166 165-167 156	60 46 38	217-219	60	209-217
8) Sulfisomidin	239-242 240-242 246	69 46 60	308	60	303-309
9) Sulfaethidol	185 185-188 188	46 69 37	185-187	60	183-188

Tabelle III (Fortsetzung)

Sulfonamide	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 3	Spalte 4	Spalte 5
10) Sulfafurazol	192 192-195 194-199	60 46 69	210	60	210-214
11) Sulfamethoxazol	169 170	37 60	225-229	60	225-230
12) Sulfamoxol	188-193 188-195	60 37	240-242	60	238-242
13) Sulfaphenazol	178-179 179-183 180-183	60 46 69	203-204	59	198-202
14) Sulfadimethoxin	200-202 204-205	46 60	220-223	60	217-225
15) Sulfalen	179	60	213-215	60	208-212
16) Sulfamethoxydiazin	209-213 212	46 60	248	60	245-249
17) Sulfamethoxy- pyridazin	180-183 182 178-181	46 60 69	226-227	60	222-227
18) Sulfaperin	264-266	60	272-274	60	258-265
19) Sulfamerazin	231-234 234-238 235	69 46	247-250	60	245-250
20) Sulfamethizol	204-211	60	244	60	240-245
21) Sulfaproxilin	187-188	60	246-247	7	245-247
22) Sulfatholamid=Sulfa- thiocarbamid-Salz des Mafenid					165-174* 191-197
23) Sulfaguanidin	188-190 188-192 190-193 174-176	60 69 46 38	266	60	262-269
24) Carbutamid	137-141 144	69 60	178-180	60	178-180

IV) Dünnschichtchromatographie

Hauptanliegen dieser Arbeit war es, eine Identifizierung der Sulfonamide und der Acetyl-Sulfonamide anhand reproduzierbarer hR_f -Werte und unter Verwendung verschiedener Laufmittel zu erreichen. Die Dünnschichtchromatographie erwies sich dabei wegen ihrer schnellen und einfachen Ausführung als eine geeignete Methode, zumal mit der Anwendungsmöglichkeit von DC-Fertigplatten ein weiterer Schritt zu einer Standardisierung dieser Methode geworden ist.

Von jeder Substanz wurden zunächst drei hR_f -Werte ermittelt und daraus der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet. Ergaben sich bei der Berechnung der Standardabweichung Maßzahlen, die über vergleichbare Werte bei den anderen Substanzen hinausgingen, so wurden von diesen Verbindungen weitere hR_f -Bestimmungen vorgenommen, bis sich durch die Vielzahl der Versuche die aufgezeigte Streuung entweder bestätigen oder einengen ließ.

Leider konnte nicht bei allen Verbindungen die notwendige Anzahl von hR_f -Wertbestimmungen durchgeführt werden, da noch vor der endgültigen Beendigung dieser Versuchsreihe die Herstellung der benützten DC-Fertigplatten eingestellt wurde.

Die neuen verbesserten Platten, mit denen nun gearbeitet wurde, zeigten aber bei ersten vergleichenden Untersuchungen bei einigen Substanzen zum Teil erheblich veränderte hR_f -Werte. Dies gab den Anschlag, eine zweite Versuchsreihe anzulegen, die in Art und Umfang der ersten entsprach, und beide mit-

einander zu vergleichen.

Der abschließende Vergleich sollte die aufgetretenen Unterschiede und die verbliebenen Gemeinsamkeiten aufzeigen und dazu beitragen, eventuelle Fehler zu berücksichtigen oder Ergebnisse zu bestätigen.

Methodisches Vorgehen:

1 mg von jeder Prüfsubstanz wurde in 1 ml Aceton gelöst, und die Lösungen in verschließbaren Probengefäßen Typ Eppendorf aufbewahrt. Dabei zeigte es sich, daß von den Reinsubstanzen Sulfanilamid, Sulfaatholamid, Sulfaperin und die Acetyl-Derivate von Sulfamoxol, Sulfaguanidin, Sulfaathiazol, Sulfisomidin und Sulfa-dimethoxin erst nach längerem Schütteln und leichtem Erwärmen in Lösung gingen.

Die gewonnenen Lösungen wurden bis zu ihrem Aufbrauchen, höchstens aber für eine Versuchsreihe benützt. Als Chromatographieplatten wurden die gebrauchsfertigen DC-Alufohlen, Kieselgel 60 F 254 (0,25 mm Schichtdicke) von der Firma Merck verwendet. Die Startpunkte wurden 2,5 cm vom unteren Plattenrand entfernt im Abstand von mindestens 1,2 cm markiert und 10 cm darüber die Ziellinie gezogen. Mit Mikropipetten wurden 5 - 10 µl der aufbewahrten Lösungen auf die Startpunkte aufgetragen, was einer Substanzmenge von 5 - 10 µg entsprach.

Als Trennkammern wurden die im Institut vorhandenen Glaskammern verwendet, die 25 x 24 x 9 cm maßen. Ihre Deckel waren geschliffen; die Aufliegefläche des Deckels auf der Kammer wurde vor jeder Benützung zur besseren Abdichtung mit einer Silikonpaste bestrichen.

Als Laufmittel kamen fünf Lösungsmittelkombinationen zur Anwendung, die in der Literatur als geeignet zur Dünnschichtchromatographie von Sulfonamiden angegeben waren und bereits in einer ähnlichen Arbeit von FLUX (15) verwendet worden sind, in der ebenfalls ein Nachweis von Sulfonamiden an Hand der DC durchgeführt wurde.

Es waren dies:

Laufmittel I: Chloroform - n-Butanol - Petroläther =
30 : 30 : 30;

Laufmittel II: Chloroform - Acetonitril = 50 : 50;

Laufmittel III: Butanol - Aceton - Methanol - Diäthylamin = 90 : 10 : 10 : 10;

Laufmittel IV: Chloroform - Methanol = 80 : 15;

Laufmittel V: Aceton - Methanol - Diäthylamin =
90 : 10 : 10;

Die Fließmittel wurden frühestens eine Stunde nach Einfüllen in die Trennkammern benützt, die während dieser Zeit wiederholt durchgeschüttelt wurden, damit in jedem Falle eine Sättigung der Kammern gewährleistet war. Die Laufmittel wurden höchstens 4 - 5 mal verwendet.

Nach dem Trocknen der aufgetragenen Substanzlösungen wurden in jede Kammer zwei DC-Fertigplatten Front zu Front gestellt und abgewartet, bis die Laufmittelfront die Ziellinie erreicht hat. Die Laufzeiten waren bei den einzelnen Laufmitteln konstant und lagen zwischen 30 Minuten und 130 Minuten. Genaue Zeitangaben in Tab. IX - XIII.

Nach dem Lufttrocknen der Platten wurden diese unter dem UV-Analysiergerät der Firma UV-Analys bei einer

Wellenlänge von 254 mm betrachtet. Dabei ließen sich alle Substanzen als runde oder ovale Absorptionsflecken nachweisen. Sie wurden unter dem Gerät mit einem Schreibstift umrandet.

Anschließend wurden die Platten noch mit Sprühreagenzien behandelt, wobei drei verschiedene Methoden angewandt wurden:

Färbung A erfolgte durch Aufsprühen von "Ehrlichs Reagenz" in folgender Zubereitung:

1 g 4-Dimethylaminobenzaldehyd,
25 ml konz. Salzsäure,
75 ml Methanol.

In Färbung B ist die Salzsäure durch Phosphorsäure ersetzt. Ansonsten wie A.

Bei Färbung C wurde nach Diazotieren mit frisch bereiteter Natriumnitritlösung (1%ig in n-Salzsäure) und kurzem Abwarten "Bratton-Marshall-Reagenz" aufgesprüht, wobei eine 0,1%ige Lösung von N-(1-Napthyl)-Äthylendiammoniumdichlorid in Methanol verwendet wurde. Es zeigte sich dabei, daß alle Reinsubstanzen sich mit den drei Sprühverfahren anfärben ließen, während die Acetylverbindungen keinerlei Farbreaktionen eingingen.

Abschließend wurden noch die Mittelpunkte der Flecken markiert und ihre Steighöhen gemessen und protokolliert. Die Millimeterzahl der Steighöhen ergab bei einer Laufstrecke von 10 cm zugleich auch den hR_f -Wert. Bei konkaver oder konvexer Wölbung der Laufmittelfront wurden die gemessenen Steighöhen in die entsprechenden

hR_f-Werte umgerechnet.

Zur Berechnung der Standardabweichung (s) verwendeten wir folgende Formel:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \left[\sum_{j=1}^n x_j^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{j=1}^n x_j \right)^2 \right]; \quad (35)$$

Tabelle IV

DC mit Laufmittel I: Chloroform - n-Butanol - Petroläther = 30 : 30 ;

 $\bar{x}$ = Mittelwert in mm

s = Standardabweichung

SA Ac-SA	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe		
	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung
1	13	3,1	+	12	3,7	+
1-Ac	7	2,4	+	6	2,1	+
2	47	2,7	+	40	2,4	+
2-Ac	39	2,6	+	31	2,5	+
3	90	1,7		85	2,7	
3-Ac	86	1,2		76	2,2	
4	61	0,6		56	2,9	
4-Ac	48	2,0		40	3,2	
5	45	4,4		33	4,6	
5-Ac	41	3,1		28	3,8	
6	35	2,1	+	26	5,6	+
6-Ac	16	3,9	+	9	1,8	+
7	45	2,0		34	1,8	
7-Ac	31	3,2		26	1,9	
8	24	1,5		14	3,7	
8-Ac	12	0,6		8	1,4	
9	71	1,2		45	3,1	
9-Ac	57	3,1		33	3,6	
10	76	4,1		65	4,9	
10-Ac	57	6,6		40	7,2	
11	84	0,6		79	2,4	
11-Ac	74	4,0		63	3,8	

Tabelle IV

DC mit Laufmittel I:

12	45	1,6		35	2,8	
12-Ac	43	2,6		32	2,2	
13	86	2,1		77	5,2	
13-Ac	78	1,5		63	5,9	
14	84	1,0		78	4,1	
14-Ac	75	1,6		67	4,9	
15	61	1,0		65	1,8	
15-Ac	51	1,2		49	4,1	
16	57	2,0		55	2,3	
16-Ac	48	2,5		45	3,1	
17	58	2,9		55	2,4	
17-Ac	52	2,1		53	2,7	
18	61	2,6	+	55	4,5	+
18-Ac	54	5,2	+	45	1,9	+
19	57	2,3		51	3,2	
19-Ac	46	2,8		37	3,0	
20	57	1,4		36	3,6	
20-Ac	45	1,2		23	4,5	
21	87	2,5		63	7,7	
21-Ac	66	4,7		32	7,2	
22	50	3,4	+	23	7,3	+
22-Ac	17	2,8	+	8	1,9	+
23	11	0,4	+	10	2,1	+
23-Ac	12	1,4	+	9	1,8	+
24	76	4,0		77	3,8	
24-Ac	65	4,5		60	5,8	

Tabelle V

DC mit Laufmittel II: Chloroform - Acetonitril = 50 : 50 ;

 $\bar{x}$ = Mittelwert in mm

s = Standardabweichung

SA Ac-SA	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe		
	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung
1	25	3,9	+	18	0,6	+
1-Ac	9	2,8	+	5	0,4	+
2	68	2,8		65	2,5	
2-Ac	47	6,2		41	2,0	
3	85	3,5		89	2,4	
3-Ac	71	0		68	3,3	
4	66	0		68	2,4	
4-Ac	44	0,6		43	2,2	
5	42	1,0		38	4,2	
5-Ac	31	0,6		25	4,5	
6	46	6,7	+	36	8,0	+
6-Ac	11	1,8	+	10	3,7	+
7	67	1		66	2,1	
7-Ac	49	1,2		47	3,4	
8	18	0,6		15	1,8	
8-Ac	8	0		7	0,7	
9	25	1,7		20	2,8	
9-Ac	12	1,2		9	1,0	
10	78	2,9		64	3,2	
10-Ac	51	0,8		28	2,6	
11	84	0,9		74	2,1	
11-Ac	64	0,8		44	3,1	

Tabelle V

DC mit Laufmittel II:

12	61	2,7		54	2,6	
12-Ac	50	2,4		43	3,4	
13	83	0,6		78	4,1	
13-Ac	61	1,2		57	3,4	
14	88	1,2		83	3,9	
14-Ac	67	2,3		60	3,1	
15	88	1,2		84	1,7	
15-Ac	69	2,5		60	1,5	
16	75	2,6		69	1,9	
16-Ac	58	2,6		49	1,4	
17	60	1,7		54	1,2	
17-Ac	43	1,5		37	0,6	
18	74	2,7	+	64	1,3	+
18-Ac	55	3,9	+	43	1,4	+
19	66	1,5		67	2,0	
19-Ac	45	1		43	2,3	
20	26	0,6		17	1,9	
20-Ac	10	1		8	0,8	
21	87	2		75	6,4	
21-Ac	45	1		35	5	
22	48	4,1		35	5,9	
22-Ac	8	0,6		9	1,1	
23	16	1,7		15	2,3	
23-Ac	13	1,8		11	1,7	
24	73	2,8		62	2,9	
24-Ac	51	2,2		46	1,1	

Tabelle VI

DC mit Laufmittel III: Butanol - Aceton - Methanol - Diäthylamin =

$\bar{x}$ = Mittelwert in mm

90 : 10 : 10 ;

s = Standardabweichung

SA Ac-SA	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe		
	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung
1	18	0,9	+	16	1,6	+
1-Ac	19	0,5	+	17	1,1	+
2	35	4		34	2,2	
2-Ac	37	3,4		37	0	
3	57	1,5		54	2,2	
3-Ac	62	1,5		59	1,3	
4	57	1,5		52	0	
4-Ac	53	0,6		51	1,1	
5	32	1		31	1,5	
5-Ac	38	1		35	2,7	
6	30	2,4	+	35	2,3	+
6-Ac	36	1,6	+	39	1,9	+
7	74	1		72	1,7	
7-Ac	74	1		74	5,2	
8	52	0,6		47	4	
8-Ac	54	1		47	3,9	
9	41	1,2		36	1,5	
9-Ac	44	1		39	0,5	
10	45	2,8		40	1,1	
10-Ac	54	2,1		47	1,1	
11	45	1		43	2,2	
11-Ac	48	1		47	1,1	

Tabelle VI

DC mit Laufmittel III:

12	41	3,8		40	0,9	
12-Ac	43	1,9		44	1,7	
13	67	1,2		62	6,3	
13-Ac	72	1,2		70	8,1	
14	43	0		52	4	
14-Ac	44	0		55	4,2	
15	52	0		49	5,6	
15-Ac	54	0		48	3,1	
16	43	0		37	3,2	
16-Ac	44	0,6		39	3,4	
17	51	1		44	3,9	
17-Ac	50	0,6		46	4,7	
18	43	0,5		38	2,9	
18-Ac	43	0,5		40	3,8	
19	45	0,6		42	0,9	
19-Ac	45	0,6		43	0,8	
20	34	4		33	2,5	
20-Ac	40	0,6		36	1,8	
21	56	1,2		59	11,1	
21-Ac	65	1		67	8,1	
22	31	4,9	+	31	4,1	+
22-Ac	34	1	+	35	3,5	+
23	25	1,1	+	25	1,6	+
23-Ac	28	2	+	29	1,3	+
24	48	2,4		46	3,1	
24-Ac	52	2,8		52	3,8	

Tabelle VII

DC mit Laufmittel IV: Chloroform - Methanol = 80 : 15 ;

 $\bar{x}$ = Mittelwert in mm

s = Standardabweichung

SA Ac-SA	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe		
	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung
1	25	3,6		18	0,7	
1-Ac	18	2,7		12	0,7	
2	63	6,6		63	2,6	
2-Ac	54	6,5		58	1	
3	70	3,5		67	4,2	
3-Ac	64	5,8		64	3,5	
4	72	4,7		71	7,8	
4-Ac	63	5,5		61	9,9	
5	54	1,4		47	5,7	
5-Ac	51	2,2		41	4,4	
6	44	2,8		37	4,2	
6-Ac	20	2,8		13	2,5	
7	48	1,5		44	2,5	
7-Ac	49	1,2		43	2,0	
8	55	3,6		51	8,4	
8-Ac	47	1		41	8,9	
9	71	1,2		59	3,2	
9-Ac	56	2,2		48	3	
10	57	6,2		59	0,6	
10-Ac	42	3,6		42	0	
11	71	1,5		74	1,0	
11-Ac	62	1,9		67	1,7	

Tabelle VII

DC mit Laufmittel IV:

12	70	0,6		69	3,1	
12-Ac	69	1,5		67	2,0	
13	76	3,5		71	3,8	
13-Ac	67	6,8		59	7,4	
14	87	0,6		84	2,6	
14-Ac	82	2,9		80	4,2	
15	95	1,9		91	1,4	
15-Ac	90	1		83	2,1	
16	86	0,6		81	0,7	
16-Ac	81	1,5		74	2,1	
17	82	6,6		76	1,2	
17-Ac	79	2,8		70	1,2	
18	79	4,2		73	0,7	
18-Ac	74	3,4		59	1,2	
19	68	1		74	0	
19-Ac	59	1,7		71	0	
20	56	2,6		52	6,4	
20-Ac	47	1,5		41	4,2	
21	74	1		63	6	
21-Ac	57	5		38	4,3	
22	46	6		35	3,4	
22-Ac	23	0		14	1,5	
23	21	1,7	+	21	4,4	
23-Ac	21	1,9	+	20	4,1	
24	76	3		73	4,9	
24-Ac	65	2,7		71	3,5	

Tabelle VIII

DC mit Laufmittel V: Aceton - Methanol - Diätylamin = 90 : 10 : 10 ;

 $\bar{x}$ = Mittelwert in mm

s = Standardabweichung

SA Ac-SA	1. Versuchsreihe			2. Versuchreihe		
	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung	$\bar{x}$ mm	s mm	Schwanz- bildung
1	12	2,2	+	11	0,5	
1-Ac	9	1,8	+	9	0,5	
2	38	4,2		32	1,6	
2-Ac	31	3,1		27	1,9	
3	56	2		46	4,8	
3-Ac	54	2		41	5,4	
4	64	0,6		52	4,6	
4-Ac	53	2		38	2,3	
5	27	0,9		36	2,5	
5-Ac	23	1		31	1,4	
6	50	8,4	+	53	2,1	+
6-Ac	42	6	+	45	2	+
7	92	1,5		90	2,7	
7-Ac	87	2,6		83	3,8	
8	46	2		44	3,5	
8-Ac	41	2		38	3	
9	34	2,6		28	1,6	
9-Ac	31	2,1		23	2,5	
10	49	4,7		39	0,9	
10-Ac	49	5,9		36	1,5	
11	53	4,4		47	0,8	
11-Ac	45	6,1		40	0,9	

Tabelle VIII

DC mit Laufmittel V:

12	38	4,8		34	2,6	
12-Ac	36	4,2		32	3,6	
13	72	2		71	5,2	
13-Ac	73	2,1		65	5,6	
14	68	4,7		69	3,6	
14-Ac	60	5		63	4,7	
15	67	1		62	0,9	
15-Ac	62	1,7		54	1,9	
16	54	7,7		47	1,5	
16-Ac	43	1,2		37	0,8	
17	55	4,5		45	1,6	
17-Ac	43	0		37	0,9	
18	48	4,2		43	1,3	
18-Ac	40	7,8		36	0,9	
19	49	0		39	2,7	
19-Ac	43	2		32	2,6	
20	25	3,6		22	2,5	
20-Ac	23	3,6		20	2,3	
21	61	3,6		63	3,1	
21-Ac	62	8,1		61	4,8	
22	38	1		49	2,6	
22-Ac	32	1		44	1,6	
23	32	2,8		35	1,7	
23-Ac	25	4,9		26	0,7	
24	43	6,5		40	0,5	
24-Ac	36	5,3		36	0,5	

C) D i s k u s s i o n d e r E r g e b n i s s e

I) Ergebnisse der Schmelzpunktbestimmung

Bei der Bestätigung der Acetylierung der Reinsubstanzen durch die Schmelzpunktbestimmung erbrachte der Vergleich der eigenen Messungen mit den Sollwerten recht befriedigende Ergebnisse. In den meisten Fällen stimmten die Schmelzpunkte überein und nur bei zwei Substanzen lagen die zu vergleichenden Mittelwerte um mehr als 3°C auseinander. Diese Abweichung und die bei einigen Messungen aufgetretene Schmelzdauer von über 5°C Temperaturdifferenz von Schmelzbeginn und Schmelzende dürfte zum Teil auf einen möglichen Gehalt an Verunreinigung der Verbindungen zurückzuführen sein.

Nahm man nun zu diesen durchaus bestätigenden Ergebnissen noch die Tatsache vorweg, daß sich keines der acetylierten Sulfonamide nach der Chromatographie mit einem der verwendeten Sprühreagenzien anfärben ließ, da ja die freie Aminogruppe am Benzolring bereits umgesetzt war, so war die Acetylierung am N_4 -Atom sicher bewiesen. Zur Diskussion stand jetzt nur noch die Möglichkeit, daß eine Acetylierung am N_4 -Atom und am N_1 -Atom stattgefunden hat.

In der Literatur konnten dazu von vier Sulfonamiden auch die Schmelzpunkte der N_1 , N_4 -Acetyl-Derivate gefunden werden. Es waren dies:

- | | |
|----------------------|---|
| 10) Sulfafurazol: | Fp. von N_4 -Ac-SA = 210°C
Fp. von N_1 , N_4 -Ac-SA = 213°C |
| 11) Sulfamethoxazol: | Fp. von N_4 -Ac-SA = $225-229^{\circ}\text{C}$
Fp. von N_1 , N_4 -Ac-SA = $148-149^{\circ}\text{C}$ |

- | | |
|-------------------------|---|
| 14) Sulfadimethoxin: | Fp. von N_4 -Ac-SA = 220-223° C |
| | Fp. von N_1, N_4 -Ac-SA = 202° C |
| 16) Sulfamethoxydiazin: | Fp. von N_4 -Ac-SA = 248° C |
| | Fp. von N_1, N_4 -Ac-SA = 232-234° C; |

Die Unterschiedlichkeit der Schmelzpunkte bei den einfach und zweifach acetylierten Substanzen 11, 14 und 16 zeigt deutlich, daß es sich bei den nachgewiesenen acetylierten Substanzen um die N_4 -Ac-Derivate der jeweiligen Sulfonamide gehandelt haben muß, während bei Sulfafurazol eine zusätzliche Acetylierung am N_1 -Atom nicht ausgeschlossen werden konnte.

II) Ergebnisse der Dünnschichtchromatographie (DC)

Wie bereits früher erwähnt, konnten alle Substanzen als Absorptionsflecken unter dem UV-Analys nachgewiesen und markiert werden.

Beim Nachbehandeln der Platten mit den Sprühverfahren A, B und C ließen sich alle Reinsubstanzen mit allen drei Methoden anfärben, während die Acetylverbindungen in keinem Falle irgendwelche Farbreaktionen aufwiesen. Zahlreiche Versuche mit anderen Sprühmitteln blieben ebenso ohne Erfolg. Erst nach Entacetylierung durch Aufsprühen von n-HCl, bzw. 2n-HCl, und anschließend 20-minütigen Erwärmen bei 60° C war es möglich, nun auch diese Substanzflecken nach Methode C anzufärben. Dies gelang allerdings nur vereinzelt, da durch das mehrmalige Besprühen der Platten mit den aggressiven Reagenzien sich meist die Kieselgelschicht von der Alufolie löste und zerfiel. Eine Entacetylierung mit basischen Sprühmitteln gelang nicht.

Beim Anfärben mit der Methode A und B erschienen gelbe Flecken, die bei A etwas matter, bei B leuchtend gelb ausfielen. Beide blaßten nach kurzer Zeit deutlich ab. Bei Methode C färbten sich die Substanzflecken violett, wobei die Tönung entscheidend vom p_H -Bereich abhing. Der kräftigste und sauberste Violett-Ton zeigte sich hier bei neutralen p_H -Werten, was durch nachträgliches Aufsprühen von Pufferlösung erreicht werden konnte.

In den Tabellen IV - VIII sind die erhaltenen hR_f -Mittelwerte und die Standardabweichung der ausgeführten Versuchsdurchgänge aufgezeichnet. Das S in Spalte 3 weist auf eine konstante Schwanzbildung hin, die auch durch eine Verringerung der Auftragsmenge nicht verhindert werden konnte.

Zum besseren Vergleich der einzelnen Substanzen untereinander und der 1. und 2. Versuchsreihe wurden auf den anschließenden Tabellen IX - XIII noch einmal dieselben Informationen auf Millimeterpapier graphisch dargestellt. Dabei wurde der jeweils niedrigste und höchste hR_f -Wert eingetragen und bei den Reinsubstanzen mit einer durchgehenden Linie, bei den Ac-Verbindungen mit einer unterbrochenen Linie verbunden. Ein Querstrich in der Linie gibt den errechneten Mittelwert der Steighöhen an, eine Pfeilspitze deutet auf eine Schwanzbildung hin.

Zur besseren Übersicht haben wir außerdem noch die einzelnen Substanzen in der Reihenfolge ihrer Steighöhen aufgezeichnet, wobei die hR_f -Werte der Rein-Sulfonamide der 2. Versuchsreihe als Richtzahlen dienten. Auf diese Weise konnte auch gut

beurteilt werden, inwieweit sich die einzelnen Fließmittel zur Trennung der Sulfonamide eigneten. Am deutlichsten trat diese Eignung beim Laufmittel I und IV hervor, da sich hier die hR_f -Werte der einzelnen Substanzen voneinander genügend unterschieden und sich dabei über die gesamte Länge der Laufhöhe verteilten. Als Gegenbeispiel dazu ist das Laufmittel III anzuführen, wo über zwei Drittel der Substanzen Steighöhen nur zwischen 30 und 50 mm aufwiesen, sich also sehr undifferenziert darstellten. Allerdings fällt hier auf, daß es das einzige Laufmittel war, bei dem die Acetylderivate fast durchwegs höhere hR_f -Werte aufzeigten als ihre Reinsubstanzen. Bei allen übrigen Laufmitteln lagen sonst umgekehrt die hR_f -Werte der Acetylverbindungen in nahezu gleichbleibenden Abständen unter denen der Reinsubstanzen, bei Laufmittel I, IV und V nur knapp, bei Laufmittel II dagegen deutlich. Einzelne Abweichungen waren für die spätere Identifizierung gut verwendbar.

Aus den Tabellen kann man außerdem recht deutlich sehen, ob die Laufmittel relativ konstante Steighöhen ergaben (geringe Länge der Linien) und damit den zur Identifizierung der Sulfonamide notwendigen Anspruch auf gute Reproduzierbarkeit erfüllten. Dies kann mit geringen Einschränkungen allen 5 Laufmitteln zugestanden werden, wenn man mit berücksichtigt, daß die aufgetretenen Schwankungen der hR_f -Werte hauptsächlich den wechselnden Sättigungsbedingungen der Entwicklungskammern zuzuschreiben waren. Ein Beispiel dafür erbringt die Tabelle XII. In der 1. Versuchs-

reihe findet man dort verhältnismäßig häufig "lange Linien", die auf eine starke Varianz der hR_f -Werte und damit auf eine mangelhafte Reproduzierbarkeit hinweisen könnten. Betrachtet man aber nun die zugehörigen Einzelwerte in Tabelle VIII, so findet man bei einer Substanz (z. B. bei 6 oder 24) immer Gruppen von 3 bis 4 Werten, die sich voneinander nur gering unterscheiden, von Gruppe zu Gruppe aber deutlicher. Die Erklärung dafür ist, daß die Werte einer Gruppe jeweils in einem Arbeitsgang unter verhältnismäßig gleichen Voraussetzungen erzielt wurden, während bei einem neuen Arbeitsgang unter veränderten Bedingungen auch veränderte Gruppenwerte auftraten. Hauptvariable in der DC ist aber in erster Linie die Kammersättigung und das Mischverhältnis, denen damit auch die Hauptschuld für die Abweichungen angelastet werden muß. In ähnlicher Weise kann auch die stärkere Streuung einiger anderer Substanzen bei den restlichen Laufmitteln erklärt werden, zumal diese vereinzelt auftraten. Nur bei den Sulfonamiden 10, 13 und 21 war eine allgemeine Tendenz zur Streuung feststellbar, die sowohl die nichtacetylierten wie auch die acetylierten Verbindungen betraf, so daß hier doch auf eine bedingte Reproduzierbarkeit mit den angewandten Mitteln geschlossen werden muß.

Auffällig und charakteristisch war auch bei einigen Verbindungen das Auftreten mehrerer Substanzflecken in einer Lauflinie, die sich immer ausgeprägter darstellten, je länger die anfangs hergestellte Auftragslösung benützt wurde. Alle Substanzflecken in

der Lauflinie einer Reinsubstanz ließen sich anfärben, die Flecken in der Lauflinie einer Acetylverbindung dagegen nicht. Die hR_f -Werte der zusätzlichen Flecken sind in den Tabellen IX - XIII miteingezeichnet.

Im einzelnen handelt es sich dabei um folgende Substanzen:

- | | |
|--|--|
| 1) Sulfacarbamid | : je ein weiterer Zusatzfleck bei Reinsubstanz und Acetylverbindung; |
| 7) Sulfanilamid | : vereinzelte Zusatzflecke bei Reinsubstanz und Acetylverbindung; |
| 12) Sulfamoxol | : 1 - 2 Zusatzflecke bei Reinsubstanz und Acetylverbindung; |
| 22) Sulfatolamid =
Sulfathiocarbamid-
Salz des Mafenid | : 1 Zusatzfleck bei der Reinsubstanz (Mafenid!) |
| 24) Carbutamid | : 1 Zusatzfleck bei der Acetylverbindung. |

Die Nebenflecken - erklärbar durch die Unreinheit bestimmter Substanzen und dem Auftreten von Zerfallsprodukten - konnten in allen Fällen deutlich von den Hauptflecken Sulfonamid und Ac-Sulfonamid abgegrenzt werden, da letztere sowohl unter dem UV-Analys als auch nach der Anfärbung stärker hervortraten. Abschließend wäre noch der Vergleich zwischen der 1. und 2. Versuchsreihe zu ziehen. Dabei zeigte sich, daß parallel mit der Verkürzung der Laufzeiten in der 2. Versuchsreihe in der Regel auch eine Erniedrigung der hR_f -Werte auftrat, in manchen Fällen jedoch die Abweichung von dieser Regel recht beträchtlich sein konnte. Auffallend konstant dagegen bleibt in beiden Serien der Abstand der Steighöhen von Reinsubstanz

zu Acetylderivat. Auch die Merkmale von Schwanzbildungen und zusätzlichen Flecken traten beiderseitig gleich auf. Eine Tendenz zur Streuung war nur bei drei Sulfonamiden festzustellen, bei allen anderen Substanzen waren die Schwankungen der hR_f -Werte mit Ungenauigkeiten in der Ausführung der DC, der unterschiedlichen Anzahl der Steighöhenbestimmungen und den Fehlermöglichkeiten bei der Markierung des Fleckenmittelpunktes bei Schwanzbildung zu erklären.

III) Identifizierung der Sulfonamide und Ac-Sulfonamide

Betrachtet man die Ergebnisse der DC noch einmal zusammenfassend unter dem Gesichtspunkt der angestrebten Identifizierung der SA und Ac-SA, so kann festgestellt werden, daß sich mit der Anwendung von fünf Laufmitteln zwar durchaus Unterscheidungsmöglichkeiten aufzeigten, daß aber auch oftmals die Differenzierung der hR_f -Werte nicht ausreichte, um eindeutige Nachweise erbringen zu können. Die anschließend durchgeführten Versuche, nur an Hand der Steighöhen und einiger Substanzeigenheiten die Sulfonamide bestimmen zu wollen, brachten demnach - aber auch wegen der Unübersichtlichkeit der Zahlenreihen - unbefriedigende Ergebnisse, noch dazu, wenn man die errechneten Abweichungen und die noch möglichen Abweichungen bei Verbindungen, von denen nur wenige Steighöhenbestimmungen durchgeführt wurden, mit in die Überlegungen einbezog. Wesentlich einfacher und übersichtlicher gestalteten sich allerdings die Ergebnisse, als wir für jede einzelne Sub-

stanz ein Kurvenbild erstellten, indem wir die jeweiligen hR_f -Mittelwerte, die sich bei den fünf Laufmitteln von der Substanz ergaben, in der Reihenfolge der Laufmittel und in gleichen Abständen nebeneinander aufzeichneten und diese Punkte miteinander verbanden.

Die Anregung dazu kam beim wiederholten Durchlesen der Protokoll-Liste, wobei auffiel, daß die hR_f -Werte die innerhalb eines Arbeitsganges bestimmt wurden, bei allen Laufmitteln konstant höher oder tiefer lagen als vergleichbare hR_f -Werte, die anderen Ausführungsgängen entsprachen. Dies führte zu der Annahme, daß mit der Verbindung der Mittelwerte in der o. a. Art Kurvenbilder entstehen müßten, die sich auch unter veränderten DC-Bedingungen im Gesamtbild nur gering verändern dürften, während eine parallele Verschiebung der Kurve nach oben oder unten in dem Ausmaß der Standardabweichung zulässig wäre.

Der spätere Vergleich der Kurvenbilder der ersten und zweiten Versuchsreihe bestätigt diese Annahme.

Die so entstandenen Kurvenbilder waren für manche Sulfonamide sehr typisch und erlaubten eine schnelle Einschätzung, um welches SA oder Ac-SA es sich handeln könnte und gegen welches andere es noch genauer abgegrenzt werden mußte.

Bei der Wahl der Reihenfolge der Laufmittel wurde mit Bedacht das LM I an den Anfang gestellt, da sich dieses LM vor allen anderen durch genügende Differenzierung und guter Reproduktion der Steighöhen auszeichnete.

Somit konnte bereits auch die Anfangshöhe der Kurve als zusätzliches und zuverlässiges Unterscheidungsmerkmal verwendet werden.

Während nun eine Identifizierung der Sulfonamide an Hand der Doppelkurven - SA und Ac-SA - in fast allen Fällen möglich war, traten beim Vergleich der Einzelkurven untereinander doch noch Ähnlichkeiten auf, die eine endgültige Unterscheidung oft nicht zuließen. Dazu verhalf letztlich die Schmelzpunktbestimmung, die nahezu ausnahmslos eine schnelle und sichere Klärung herbeiführen konnte. In letzten Zweifelsfällen kann auch noch ein zweites Chromatogramm unter Zuhilfenahme von Vergleichssubstanzen angefertigt werden.

Auf den folgenden Seiten sind die Kurvenbilder der Substanzen zur besseren Nutzenanwendung nach steigenden hR_f -Werten des ersten Laufmittels geordnet graphisch dargestellt, wobei wiederum die Steighöhen der 2. Versuchsreihe die Reihenfolge bestimmten. Zu jeder Verbindung wurde auch die Standardabweichung mit eingetragen und bei den Reinsubstanzen mit einem Kreuz, bei den Acetylderivaten mit einem Kreis markiert. Die Kurvenbilder der 1. und 2. Versuchsreihe wurden zum besseren Vergleich nebeneinander dargestellt. Trotz der oftmals stark veränderten hR_f -Werte einzelner Substanzen bei verschiedenen Laufmitteln zeigte sich mit Ausnahme der erklärbaren Abweichung bei Sulfatolamid eine deutliche Übereinstimmung der Bilder, die beweist, daß mit dem hier angewandten Verfahren der

Dünnschichtchromatographie und der Schmelzpunktbestimmung ein Nachweis und eine Trennung der Sulfonamide und der Acetyl-Sulfonamide möglich ist.

Ein Beispiel aus dem eigenen Institut bestätigt diese Aussage. Aus dem Urin eines Patienten, der auf den Gehalt bestimmter Arzneimittel hin untersucht werden sollte, wurde unter anderem eine Substanz extrahiert, die auf Grund kurzer Vorproben auf ein Sulfonamid hinwies. Mit dem beschriebenen Verfahren der DC konnte nun diese Verbindung an Hand ihres Kurvenbildes recht genau als das Sulfonamid Sulfamethizol bestimmt werden, die Abgrenzung gegenüber dem noch möglichen Sulfaethidol (vergleiche die Kurvenbilder) war mit Hilfe der Schmelzpunktbestimmung eindeutig zu erbringen. Zur zusätzlichen Absicherung des Ergebnisses wurden anschließend noch die I. R.-Spektren nach der KBr-Preßtechnik erstellt. Die Identität der Kurven war eindeutig und bestätigte damit unsere Identifikation.

D) Z u s a m m e n f a s s u n g

Hauptanliegen dieser Arbeit war es, mit einfachen und schnellen Methoden eine möglichst genaue Trennung und Identifizierung der acetylierbaren Sulfonamide und ihrer N_4 -Acetyl-Derivate zu erreichen. Die Dünnschichtchromatographie unter Verwendung verschiedener Laufmittel und die zur weiteren Klärung notwendige Schmelzpunktbestimmung erfüllten diese Anforderungen und erbrachten in den allermeisten Fällen genügend Unterscheidungsmerkmale, um die einzelnen Substanzen bestimmen zu können.

Zur Ausführung der Arbeit ist festzustellen:

Die zur Durchführung der Versuche notwendigen N_4 -Acetyl-Sulfonamide wurden aus den bezogenen Reinsubstanzen mit labortechnisch ebenfalls einfachen Verfahren synthetisiert und konnten anschließend mittels der Schmelzpunktbestimmung bestätigt werden. Der dünnschichtchromatographische Nachweis der Sulfonamide und Ac-Sulfonamide wurde an Hand zweier Versuchsreihen mit zwei Arten von DC-Kieselgel-Fertigplatten geführt, die sich in Schichtdicke und Bindungsmittel voneinander unterschieden. In beiden Versuchsreihen verwendeten wir jeweils die gleichen fünf Laufmittel und ermittelten von jeder Substanz mit jedem Laufmittel mindestens 3 hR_f -Werte, bei größerer Streuung entsprechend mehr.

Unter dem UV-Analys ließen sich anschließend alle Substanzen als Absorptionsflecken nachweisen. Eine direkte Anfärbung mit den drei verwendeten Sprüh-

verfahren konnte dagegen nur bei den Reinsubstanzen erreicht werden, bei den Ac-Sulfonamiden war dies erst nach Entacetylierung möglich, und auch dann nur vereinzelt, da sich wegen der Aggressivität der Sprühreagenzien zumeist die Kieselgelschicht von der Alufolie löste.

Auf Grund der ermittelten hR_f -Werte, positiver oder negativer Farbreaktionen und charakteristischer Einzelmerkmale gelang es somit in den meisten Fällen, die einzelnen Substanzen voneinander zu unterscheiden. In den restlichen Fällen trug die Schmelzpunktbestimmung entscheidend zur weiteren Klärung bei.

Zur besseren Beurteilung der Ergebnisse und deren Nutzenanwendung wurde abschließend noch einmal alle in den Tabellen IV - VIII aufgeführten hR_f -Werte in zwei übersichtlichen Darstellungsformen auf Millimeterpapier aufgetragen.

Bei der einen Darstellungsform zeichneten wir, für jedes Laufmittel gesondert, die hR_f -Informationen aller zu prüfenden Substanzen nebeneinander auf und konnten an Hand dieser Übersichten gut beurteilen, inwieweit sich die einzelnen Fließmittel im Hinblick auf Reproduzierbarkeit und Auftrennung für den Nachweis der Sulfonamide eigneten.

Bei der zweiten Darstellungsform charakterisierten wir die einzelnen Prüfsubstanzen, indem wir die fünf hR_f -Mittelwerte, die sich für jede Substanz durch die Anzahl der Laufmittel ergab, in der Reihenfolge der LM nebeneinander auftrugen und die Punkte durch Linien miteinander verbanden. Dadurch entstanden Kurvenbilder,

die für manche Sulfonamide recht typisch waren und die Identifizierung und Trennung wesentlich erleichterten.

Der abschließende Vergleich der beiden getrennt geführten Versuchsreihen zeigt, daß die veränderten hR_f -Werte zwar in erster Linie auf die veränderten Laufzeiten der Fließmittel zurückzuführen waren, daß aber auch Abweichungen auftraten, die sich dadurch nicht erklären ließen. Daß sich dennoch eine deutliche Übereinstimmung der entsprechenden Kurvenbilder beider Serien ergab, bestätigt die Nachweisbarkeit der SA und Ac-SA mit dem Verfahren der DC. Sie zeigt aber auch, daß zur endgültigen Identifizierung unserer Prüfsubstanzen die DC allein nicht ausreicht, sondern durch die Schmelzpunktbestimmung als einem ebenso einfachen wie schnellen Verfahren ergänzt werden muß.

TABELLE IX

Laufmittel 1: Chloroform-Butanol-Petroläther 30:30:30

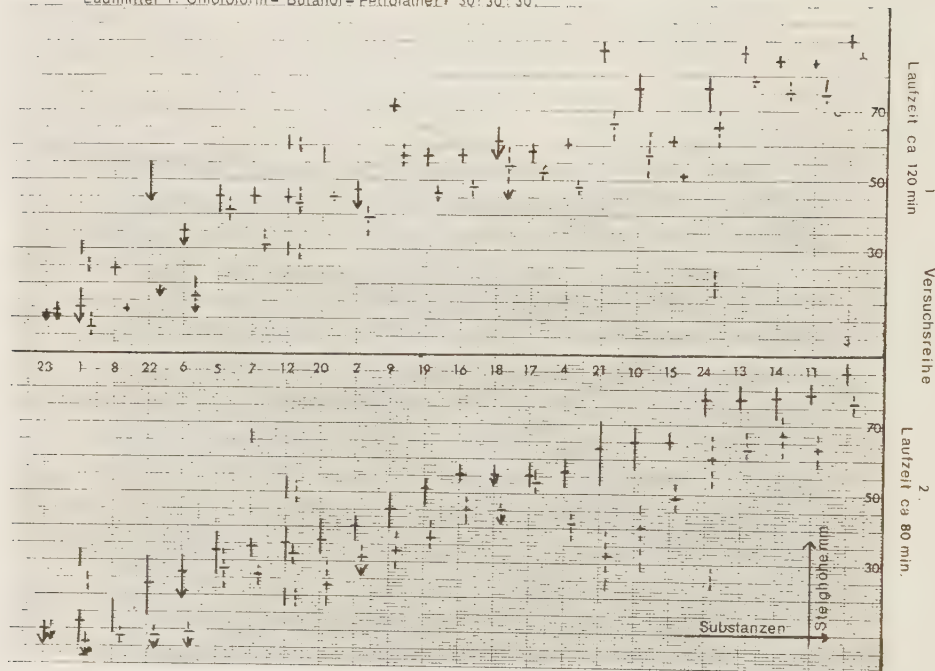


TABELLE X

Laufmittel 2: Chloroform-Acetonitril 50:50

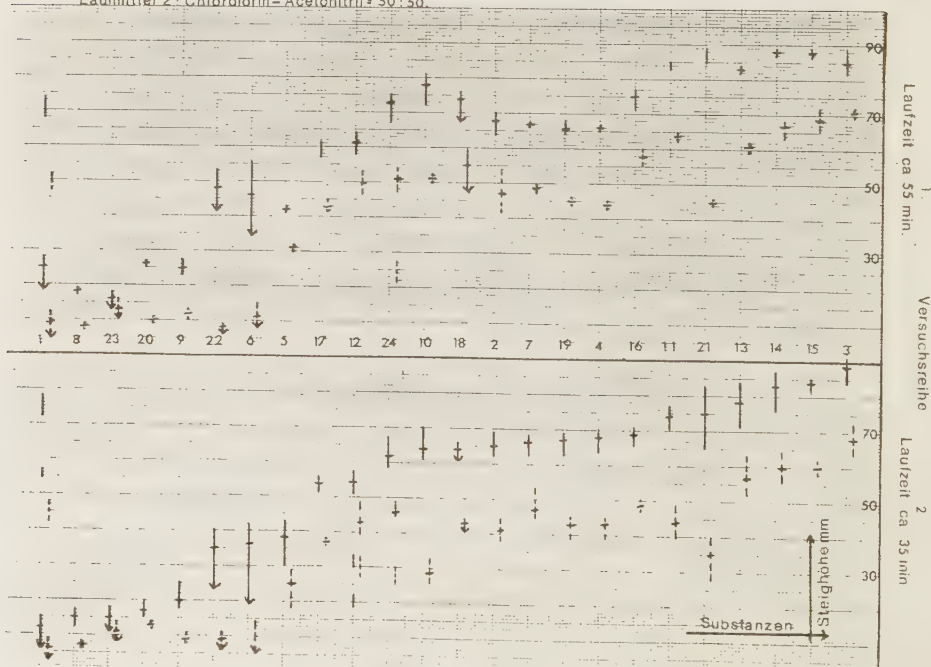


TABELLE XI

Laufmittel 3 : Butanol-Aceton-Methanol-Diäthylamin = 90:10:10:10

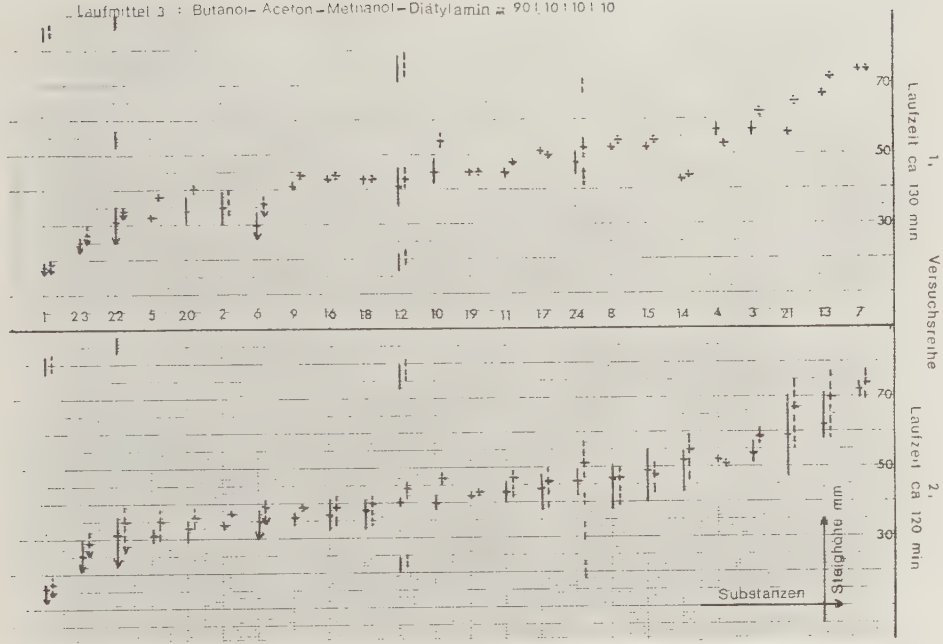


TABELLE XII

Laufmittel 4 : Chloroform-Methanol = 80:50

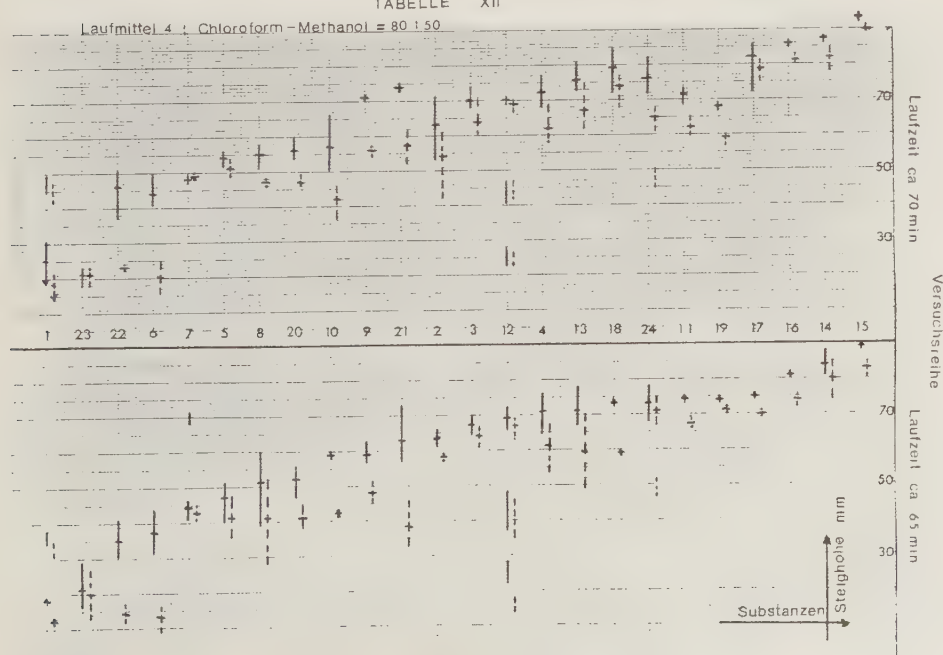
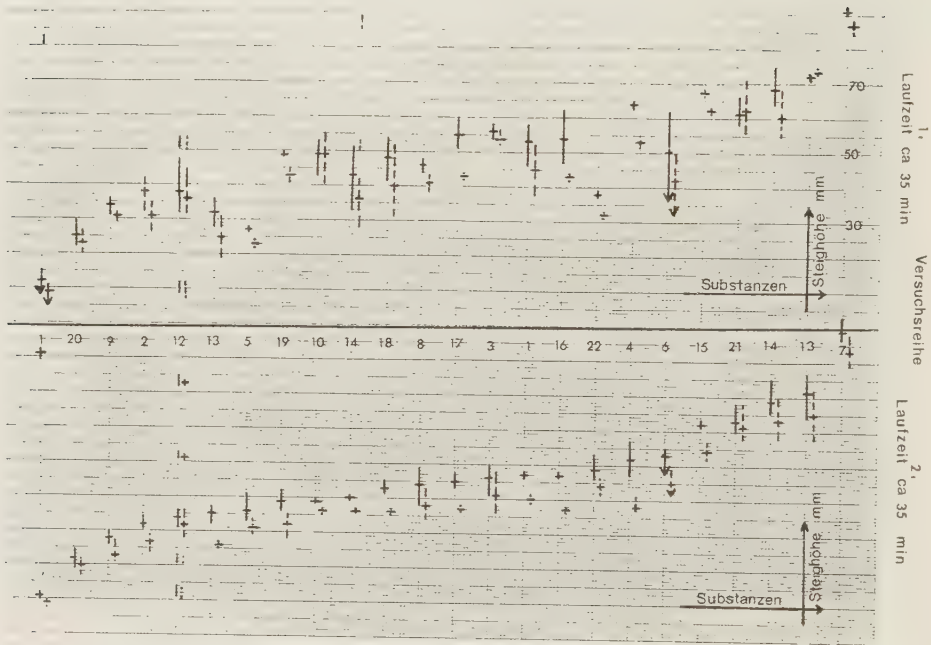


TABELLE XIII

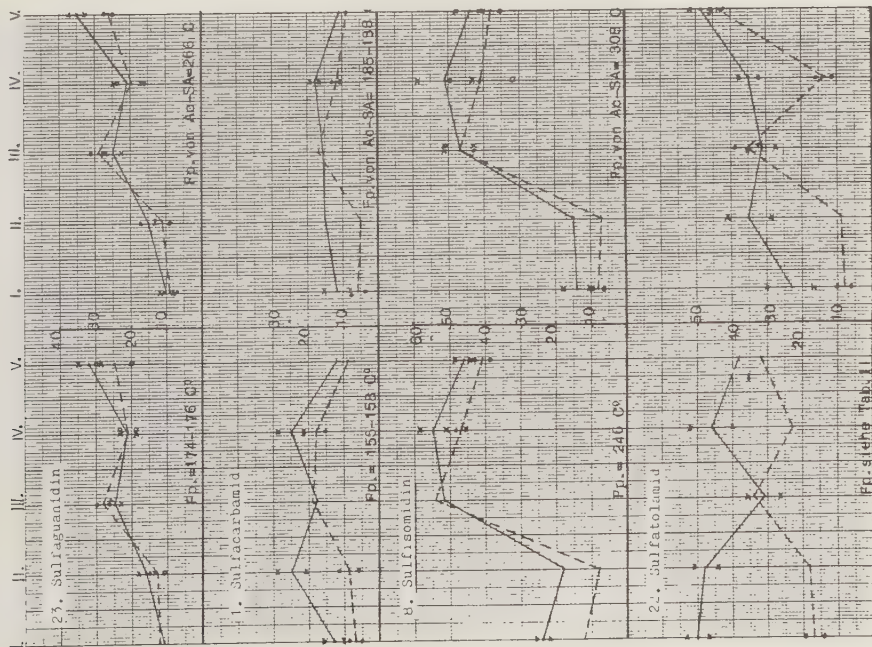
Laufmittel: 5 : Aceton-Methanol-Diäthylamin = 90 : 10 : 10



1. Versuchsreihe

2. Versuchsreihe

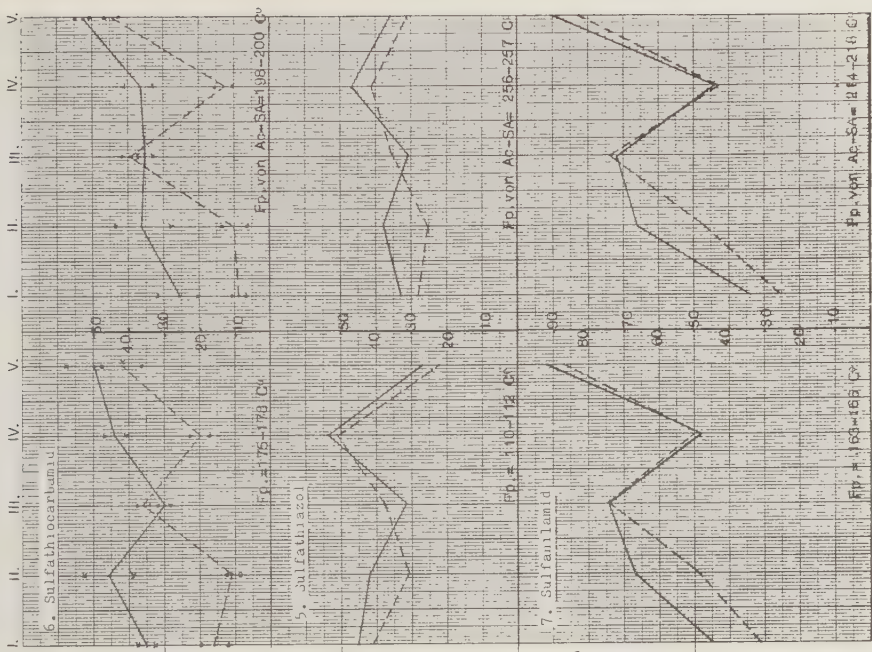
LAUF MITTEL



1. Versuchsreihe

2. Versuchsreihe

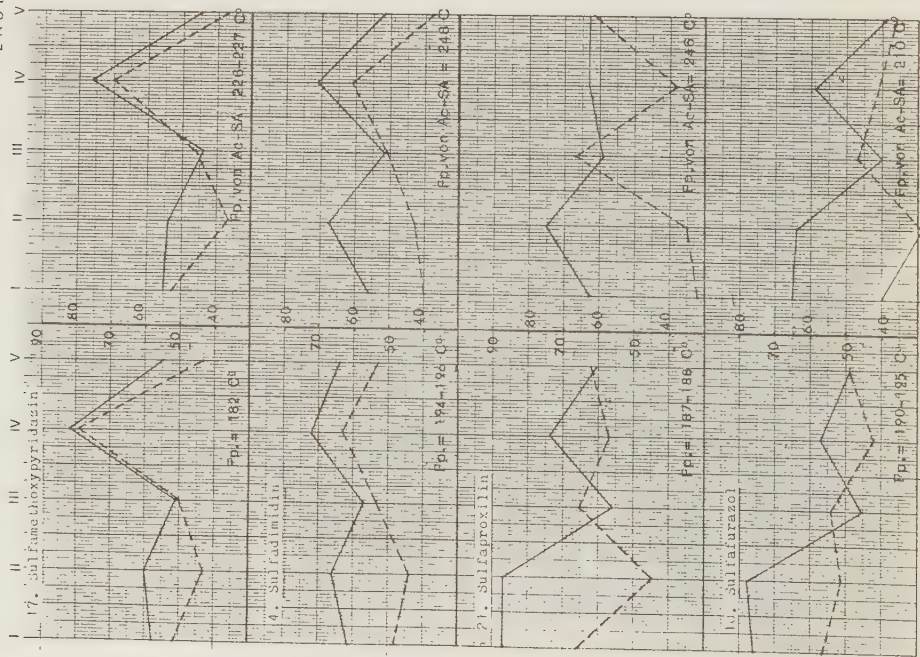
KURVENBILDER



1. Versuchsreihe

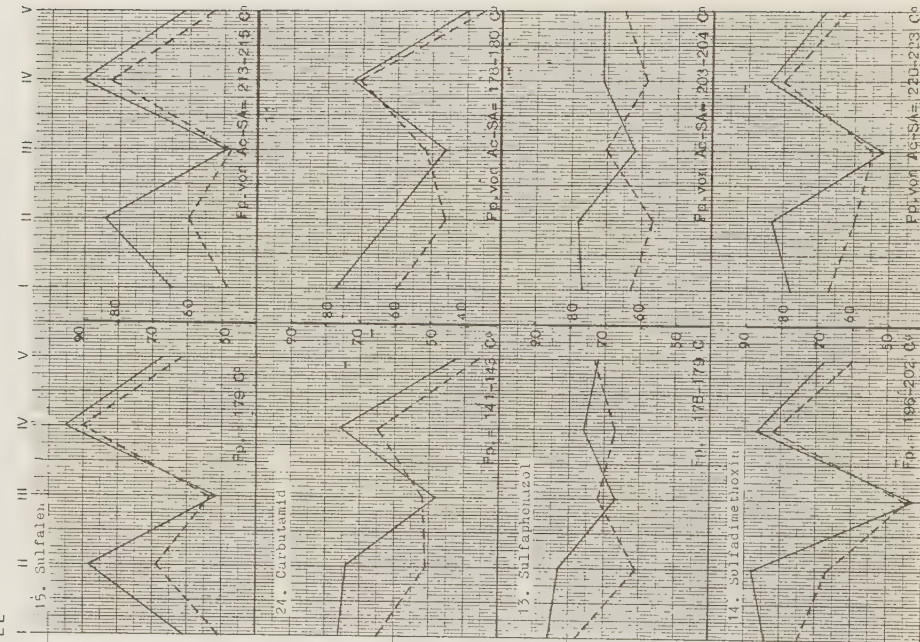
2. Versuchsreihe

LAUF MITTEL



1. Versuchsreihe

2. Versuchsreihe



KURVENBILDER

1. Versuchsreihe

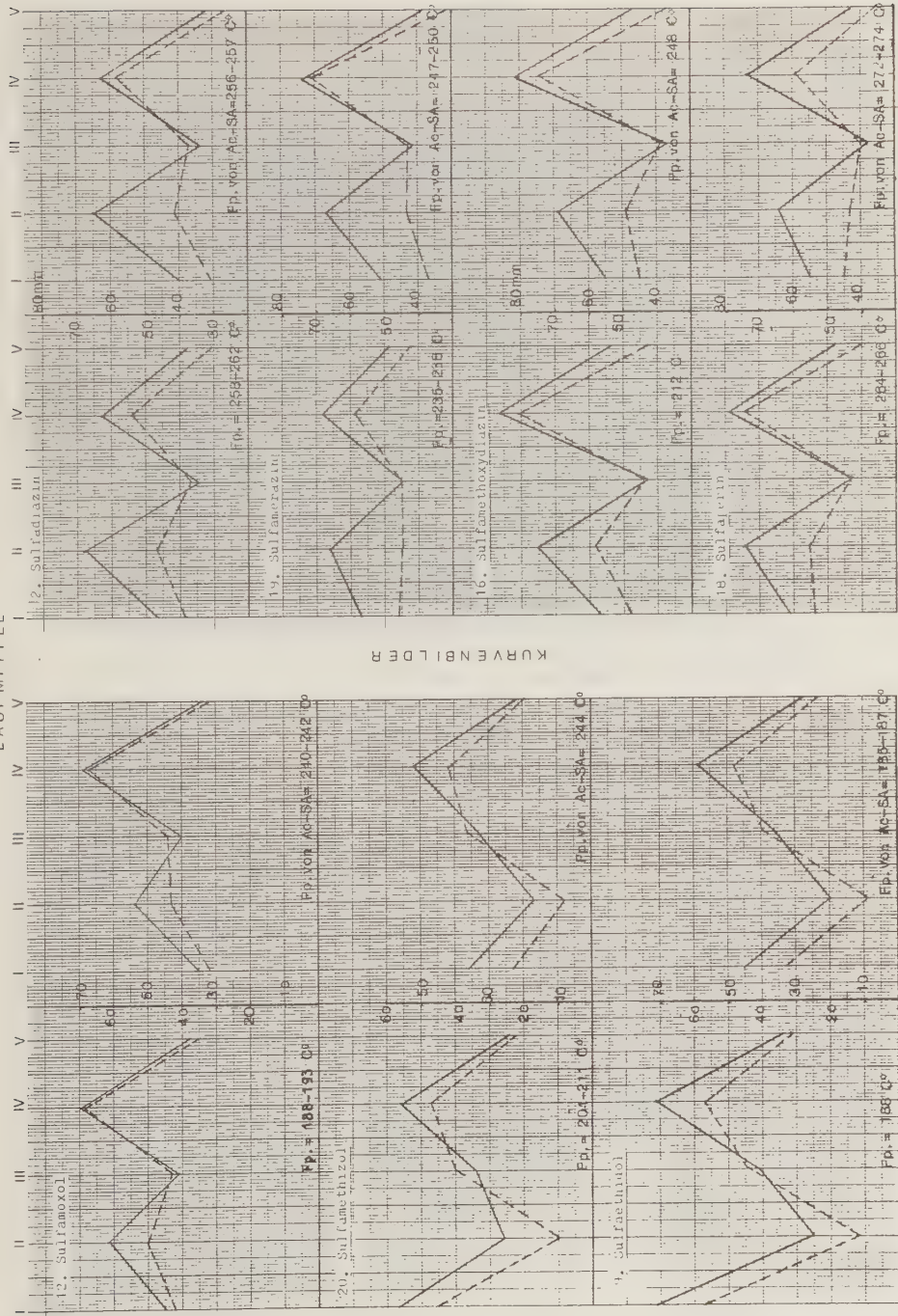
2. Versuchsreihe

LAUFMITLEL

1. Versuchsreihe

2. Versuchsreihe

KURVENBILDER

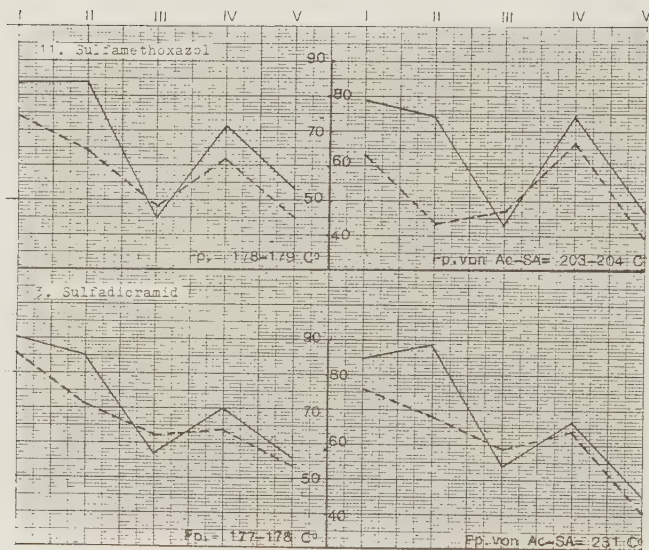


KURVENBILDER

1. Versuchsreihe

2. Versuchsreihe

LAUFMITTEL



F) Literaturverzeichnis

1. Arzneibüro der ABDA: Pharmazeutische Stoffliste, 4. Auflage
2. Bican-Fister, T.,
Kajganovic, V.: J. Chromatog., 11, 492, (1963)
und 16, 503 (1964)
3. Bogner, K.,
Engelhardt-Gölkel, A.,
u. a.: Kli. Wo., 301, (1958)
4. Braun, J.,
van Kerchove, C.: Sci. pharm., 28, 53 (1960)
5. Brunner, C. A.: Journal OF THE AOAC, Vol. 55, Nr. 1,
S. 194 (1972)
6. Domagk, G.: Dtsch. med. Wschr., 61, 250 (1935)
7. Dohrn, Diedrich, P.: Schering A. G., DPP, 840241 (1952)
8. Eichler, O., et. al.: "Handbuch der experimentellen Pharma-
kologie", Bd. XXIV, S. 298
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-
New York 1969
10. Enoki, K.: Yakugaku Zasshi, 80, 1735 (1960)
11. Feltkamp, H.: Dtsch. Apoth.-Ztg., 102, 1269 (1962)
12. Finland, M.,
Jones jr. W. F.: Amer. J. med. Sci., 234, 505 (1957)
13. Finley, K. T.,
Kaiser, R. S.: J. Chromatog., 39, 195 (1969)
14. Flaschenträger, B.,
Lehnartz, E.: "Lehrbuch und Handbuch der physio-
log. Chemie", Band II, Teil 2, d,
S. , Hrsgb. v.
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-
New York 1966
15. Flux, H.: Inaugural-Dissertation, Freiburg 1970,
Institut für gerichtliche Medizin
und Versicherungsmedizin der Uni-
versität Freiburg
16. Frisk, A. R.: Acta med. scand., Suppl. 142, 75 (1943)

17. Gänshirt, H.: "Dünnschicht-Chromatographie" v. E. Stahl
S. 517-527, (1962), Springer-Verlag
Berlin-Göttingen-Heidelberg
18. Gärtner, K.: Z. Hyg., 128, 460 (1948)
19. Goldhammer, H.: Dtsch. med. Wschr., 83, 1488 (1958)
20. Govier, W. C.: J. Pharmacol. exp. Therap.,
150, 305 (1965)
21. Gräfe, G.: Dtsch. Apoth.-Ztg., 104, 1412 (1964)
22. Gräfe, G.: Dtsch. Apoth.-Ztg., 104, 1763 (1964)
23. Gross, F.,
Gysel, H.,
Ringier, B. H.: Arzneimittelforschung, 1, 225 (1951)
24. Gsell, O.: Schweiz. med. Wschr., 74, 1095 (1944)
25. Gsell, O.: Schweiz. med. Wschr., 73, 692 (1943)
26. Heinänen, P.,
Nyyssönen, S.,
Tuderman
Chem. Zbl., 7866 (1935)
27. Held, H.,
Berger, v. L.,
Oldershausen, v. H. F.: Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.)
19, 98 (1969)
28. Hoffmann, W.,
Wilkens, G.: Pharmaz. Ztg., 83, 65, 160 (1947)
29. Houben-Weyl: "Methoden der Org. Chemie", IV. Auflage,
Band II, S. 639, Hrsgb. E. Müller,
Georg Thieme-Verlag Stuttgart 19
30. Hubmann, R.,
Straube, W.: Atti Convegni Farmitalia, S. 393,
Mailand 1969
31. Hucknall, E.,
Turfitt, G. E.: J. Pharmacy Pharmacol., 1, 368 (1949)
32. Klausgruber, F.: Wiener med. Wschr., 24, 492 (1963)
33. Klein, Sh.,
Kho, T. B.: J. of Pharmac. Sci., 51, 966 (1962)
34. Kofler/kofler, R.: Thermo-Mikro-Methoden,
3. Auflage, Verlag Chemie GmbH
Weinheim/Bergstraße 1954

35. Kreysig, E.: Statistische Methoden und ihre
Anwendung, S. 40,
Verlag Vandenhoeck und Ruprecht
Göttingen 1967
36. Krüger-Thiemer, E.,
Bünger, P.: Excerpta Medica international con-
gress Series, 97, 1358 (1965)
37. Kuhnert-Brand-
stätter, M.,
Bachleitner-Hofmann,
F.: Sci. Pharm., 39, 1 und 15 (1971)
38. Kuhnert-Brand-
stätter, M.,
Bachleitner-Hofmann,
F.: Spectrochimica Acta, 27 A, 191 (1971)
39. Langecker, H.: A.e.P.P., 205, 291, (1948)
40. Lanzendörfer, W.: Kl. Wo., 426 (1935)
41. Lapp, C.: Clin. chim. Acta, 2, 429 und 548 (1957)
42. Loop, W.,
Lührs, E.,
Redies, F.: Nordmark, DPP, 804324 (1949/51)
43. Madsen, S. T.: Chemotherapia, 11, 1 (1966)
44. Nelson, E.,
O'Reilly, J.: J. pharmaceut. Sci., 50, 417 und 912 (1961)
45. Paulus, W.,
Mallach, J. H.: Arzneimittel-Forsch., 7, 520 (1957)
46. Pohloudek-Fabini, R.,
Beyrich, Th.: "Organische Analyse unter Berücksich-
tigung der Arzneimittel", S. 404 ff;
Akad. Verlagsgesellschaft Geest und
Portig K. G., Leipzig 1967
47. Pulver, R.,
Suter, R.: Schweiz. med. Wschr., 73, 403 (1943)
48. Reinhold, J. G.,
Flippin, H. F.,
u. a.: J. Pharmacol. exp. Therap., 83, 279 (1945)
49. Reisch, J.,
Bornfleth, H.,
Rheinbay, J.: J. Pharm. Ztg., 107, 920 (1962)

50. Robinson, M. J.,
Bondi A. jr.,
Swintosky, I. v.: J. amer. pharmaceut. Ass., 47,74, (1958)
51. Rosemund, H.: Schweiz. med. Wschr., 52,1289 (1948)
52. Rottger, H.: Therapie der Gegenwart, 85,419 (1950)
53. Rybář, D.,
Tousek, B.: Pharmaz., 10,32 (1955)
54. Schoog, M.: Arzneimittel-Forschung, 1,225 (1951)
55. Smith, P. J.,
Hermann, T. S.: ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, 22,134 (1968)
56. Stahl, E.,
Kaltenbach, U.: J. Chromatogr., 4,351 (1961)
57. Sykes, W. O.: Biochem. J., 38,XXIX (1944)
58. Thomas, C.,
u. a.: Chem. Zbl., 3866 (1952)
59. Ueda, M.,
Orita, K.,
Koizumi, T.: Chem. Pharm. Bull., 19,2046 (1971)
60. Ullmann: "Enzyklopädie der techn. Chemie",
3. Auflage, Hrsgb. W. Foerst,
Band 13,16 und Ergänzungsband,
Urban-Schwarzenberg-Verlag
München-Berlin 1965
61. Vonkennel, J.,
Kimmig, J.: Kli. Wo., 2 (1941)
62. Wagner, G.: Arch. Pharmaz., 285,409 (1952)
Pharmaz., 9,123,631 (1954)
63. Wagner, H.-J.: Dtsch. Z. ges. gerichtl. Medizin,
49,714 (1960), 59,245 (1967)
64. Walker, S. R.,
Williams, R. T.: Xenobiotica, Vol. 2, Nr. 1, S. 69 (1972)
65. Wankmüller, A.: Naturw., 39,133 (1952), 40,57 (1953)
66. Wojahn, H.: Arch. Pharmaz. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.
281,124,193,289 (1943)
67. Wollish, E. G.,
u. a.: Anal. Chem., 33,1138 (1961)
68. Zbinder, F.,
Pulver, R.: Dtsch. med. Wschr., 80,1035 (1955)
69. Deutsches Arzneibuch

Dank

Herrn Professor Dr. G. Hauck möchte ich für die Überlassung des Themas, sowie für die stets freundlichen Hinweise und Ratschläge herzlich danken.

Auch all seinen Mitarbeitern, im besonderen Herrn Dr. L. v. Meyer und Herrn Dr. G. Drasch, mit deren wohlwollender Unterstützung ich nach dem Tode von Herrn Professor Dr. G. Hauck die Dissertation fertigstellen konnte, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Professor Dr. W. Spann, Direktor des Instituts für gerichtliche Medizin und Versicherungsmedizin der Universität München, der mir die Durchführung der Versuchsreihen in seinem Institut ermöglichte und sich für die Übernahme des Referates bereit erklärt hat.

G) L e b e n s l a u f

Am 24. September 1944 wurde ich als zweites von vier Kindern des Richters Dr. Franz Schubert (gest. 1974) und dessen Ehefrau Hildegard, geb. Lugert, in Pirkenhammer, Kreis Karlsbad, CSSR, geboren und röm. kath. getauft.

Im September 1950 wurde ich in Winterrieden, Kreis Illertissen, eingeschult.

Im Herbst 1954 wechselte ich in Traunstein auf das humanistische Gymnasium über und schloß meine Schulausbildung als Internatsschüler 1965 in Tegernsee mit der Reifeprüfung ab.

Ab April 1966 leistete ich den verkürzten Wehrdienst von 12 Monaten bei der Bundeswehr ab. Bis dahin hatte ich nach Rückstellungsantrag mehrere Fahrten durch Nord-, West- und Südeuropa unternommen.

Mein Studium begann ich im Mai 1967 an der tiermedizinischen Fakultät der Universität München, wechselte nach bestandenem Vorphysikum im Sommer 1968 auf das Fachgebiet Humanmedizin und legte dort im Juli 1970 die ärztliche Vorprüfung ab.

Im Juli 1975 schloß ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen ab.

Nach Beendigung der Medizinalassistentenzeit in München und Traunstein erhielt ich im April 1977 die Approbation als Arzt, war anschließend 11 Monate auf der gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Bad Reichenhall tätig und arbeite seit April 1978 als Assistenzarzt auf der inneren Abteilung des Krankenhauses Traunstein.

